

Aus der II. Med. Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. P. Schölmerich

**Assoziation der verschiedenen C3-Phänotypen mit den
verschiedenen Hyperlipoproteinämietypen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Mohammed-Esmail Omid
aus Behschahr / Iran

Mainz 1973

1076



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552610_0052

Aus der II. Med. Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor : Prof. Dr. med. P. Schölmerich

**Assoziation der verschiedenen C3-Phänotypen mit den
verschiedenen Hyperlipoproteinämietypen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Mohammed-Esmail Omid

aus Behschahr / Iran

Mainz 1973



Fachbereichsdekan :

Referent :

Korreferent :

Tag der mündlichen Prüfung: 6. März 1974

Professor Dr. med. J. Fischer

Professor Dr. med. G.J. Kremer

Professor Dr. med. P. Schölmerich

M e i n e n E l t e r n

Inhaltsverzeichnis
=====

- I . Einleitung
- II . Material und Methodik
- III. Ergebnisse und Diskussion
- IV . Statistischer Teil
- V . Literaturverzeichnis

I. Einleitung =====

1. Der Complementfaktor C3 des Blutplasmas gehört zu dem nichtspezifischen Abwehrmechanismus des menschlichen Körpers.

Der C3-Faktor ist ein Glykoprotein im β_{1c} -Globulinbereich mit einem Peptidgehalt von 97 % und einer Serumkonzentration von 80 bis 140 mg/100 ml. Dieser Komplementfaktor kann bei Alterung des Serums (Plasma) in $\beta_{1A} + \alpha_{2D}$ Globulin umgewandelt werden.

MAYER (1967) faßte den Reaktionsablauf der Komplementwirkungen als Komplementkaskade wie folgt zusammen: C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 und C9 (Abb. 1). ALPER und ROSEN (1967) befaßten sich mit der Fragestellung des Konzentrationsabfalls des C3 bei menschlichen Erkrankungen, wie z.B. Glomerulonephritis, Lupus Erythematodes und stellten fest, daß eine vermehrte Inaktivierung von C3 für die C3-Reduktion verantwortlich zu machen ist.

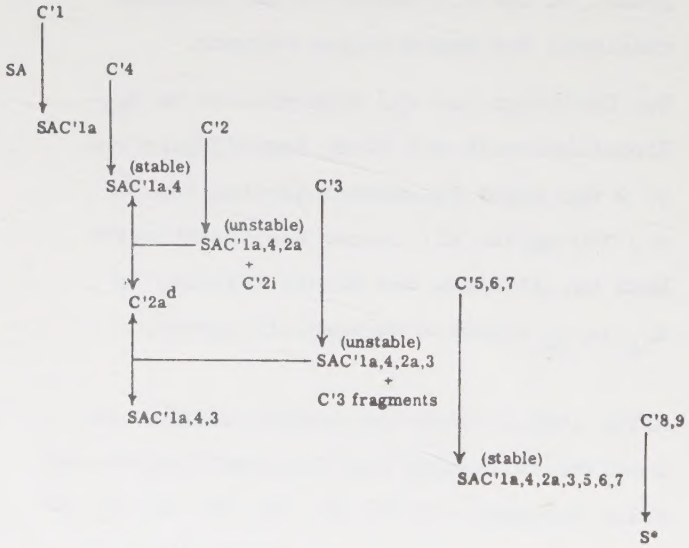


Abb. 1: Die Komplementkaskade (Mayer 1967)

ALPER et al (1969) konnten durch Untersuchungen an Patienten mit Lebertransplantation feststellen, daß als wichtige Stelle für C3-Synthese u.a. die Leber in Frage kommt.

FARHUD et al (1973) konnten durch Untersuchungen an Patienten mit Splenomegalien vor bzw. nach der Milzexstirpation keine Phänotypenveränderungen an der C3-Komponente beobachten, was als eine Stütze der Untersuchungen von ALPER et al (3) zu bewerten ist.

2. Über den Vererbungsmodus des C3 sind zahlreiche Untersuchungen vorgenommen worden. FARHUD et al (1973) berichten über Zwillingsuntersuchungen (eineiige und zweieiige) und Familienuntersuchungen (Eltern-Kind-Kombinationen sowie Mutter-Kind-Kombination); sie stellten in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren einen codominanten Vererbungsmodus von 2 Allelen ($C3^S$ und $C3^F$) und deren 3 Produkte (die Phänotypen SS, SF und FF) fest.

Nach dem heutigen Stand der C3-Untersuchungen und Klarstellung des Vererbungsmodus sowie Entwicklung einwandfreier Nachweismethoden wurde von FARHUD und WALTER (1973) eine theoretische Ausschlußwahrscheinlichkeit von 13.14 % errechnet und

die C3 Komponente als ein brauchbares System für die Vaterschaftsgutachtenfälle vorge schlagen.

TEISBERG (1971) bewies, daß keinerlei Beziehungen zwischen C3 Protein und den ABO-, RH-, MN-, Hp-, Go- und PGM₁-Systemen bestehen.

3. Populationsgenetische Untersuchungen verschiedener Autoren (siehe FARHUD und WALTER 1973) zeigen eine starke Variabilität im Bereich der Genfrequenzen bei C3 innerhalb der verschiedenen Rassen, so daß bei Negriden und Mongoliden sowie norwegischen und schwedischen Lappen eine ganz hohe C3^S-Allelenfrequenz zu verzeichnen ist (zwischen 0.90 - 0.99). Bei Europiden ist dagegen eine relativ niedrige C3^S- Allelenfrequenz (zwischen 0.75 - 0.84) zu verzeichnen, wobei dann die C3^F-Allelenfrequenz relativ steigt. FARHUD et al (1973) haben insgesamt unter Einschluß der eigenen Untersuchungen (Deutsche, Bulgaren, Iraner und Angola) 24 Populationen angegeben, die bis jetzt auf C3-Phänotypen untersucht worden sind.
4. Nach ALPER und ROSEN (1967), die durch ihre Untersuchungen eine Erniedrigung der Konzentration des C3-Proteins bei manchen Krankheiten, wie z.B.

Lupus Erythematodes und Glomerulonephritis feststellten, berichteten FARHUD et al (1972) über C3 Phänotypenbestimmungen bei fünf verschiedenen Erkrankungen (Lepra, Rheumatische Arthritis, Diabetes mellitus, Hyperlipidämien und Hepatopathien). Sie kommen zu dem Ergebnis, daß nur bei Leberpatienten und Rheumatikern mit positivem Rheumafaktor ein signifikanter Unterschied in der Phänotypenverteilung zugunsten der FF bzw. SF-Typen vorliegt. In der vorliegenden Arbeit werden die Verteilungsmuster der C3-Phänotypen bei den verschiedenen Formen der Hyperlipoproteinämien untersucht.

5. Zur Beschreibung der Phänotypen des C3-Proteins wurden bis jetzt zwei unterschiedliche Nomenklaturen von verschiedenen Autoren verwendet: ALPER und PROPP (1968, 1967) benutzten die S- und F-Nomenklatur (S = slow, F = fast). AZEN und SMITHIES (1968, 1969) verwendeten die Nomenklatur 1 - 2. TEISBERG (1970, 1971) benutzte ebenfalls die S- und F-Nomenklatur und beschrieb einige neue Varianten.

Für die autosomale, codominante Vererbung von C3 werden zwei häufige Allele $C3^S = C3^2$ und $C3^F = C3^1$ angegeben sowie 10 seltenere Allele. Dies geht aus Untersuchungen verschiedener Autoren, wie z.B. TEISBERG (1970, 1971) sowie FARHUD et al (1972) hervor.

Um eine bessere Darstellung der verschiedenen Phänotypen mit entsprechenden Allelen und den Vergleich zwischen den beiden Nomenklaturen zu geben, möchten wir auf die von FARHUD et al (1972) stammende Abbildung zurückgreifen (Abb. 2).



Abb. 2: Die bis jetzt bekannten C3-Allele sowie Phänotypen

Rechts und unten in S und F Nomenklatur

Links und oben in 1 und 2 Nomenklatur

II. Material und Methodik

=====

1. Insgesamt wurden die Phänotypenbestimmungen im Serum von 75 Patienten mit verschiedenen Formen von Hyperlipoproteinämien vorgenommen. Dabei bleibt es zunächst unberücksichtigt, ob es sich um primäre oder sekundäre Formen von Hyperlipoproteinämien handelt.

Die Diagnose der Hyperlipoproteinämien wurde im Fettlabor der II. Med. Klinik gestellt. Die Diagnose fußt auf den Analysenwerten von Gesamtcholesterin und Gesamtglyceriden im Serum sowie auf der Zuordnung zu den einzelnen Typen nach FREDRICKSON (1965) anhand der Lipoproteinelektrophorese auf Agarose (RAPP und KAHLKE, 1968). Als obere Grenze der Norm für Cholesterin gilt ein Wert von 300 mg/100 ml, für Gesamtglyceride ein Wert von 200 mg/100 ml (vergl. Abb. 3).

2. Die Seren waren alle haemolysefrei. Das Alter der Patienten umfaßte sowohl Kleinkinder als auch Erwachsene unterschiedlichen Alters, was jedoch bei unseren Untersuchungen keine Rolle spielt; denn wie FIREMAN et al (1969) anhand einer Reihe von Untersuchungen nachweisen konnte, steht der Erwachsenen Spiegel von C₃ spätestens nach 6 Monaten nach der Geburt fest.

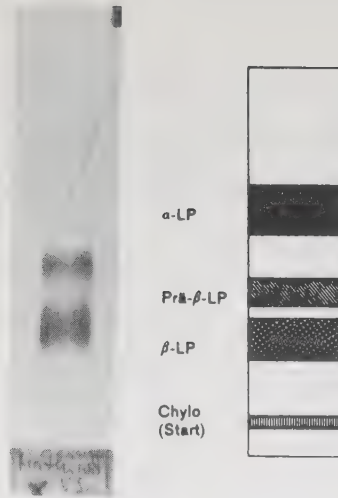


Abb. 3: Elektrophoretische Auftrennung der Lipoproteine in 4 Bänder; rechts schematisch, links Normalserum auf Agarose (Kremer, 1971)

Bezeichnung nach dem Verhalten der Lipoproteine	Andere Bezeichnungen
Typ I Hyperchylomikronämie	exogene, fettinduzierbare oder alimentäre Hypertriglyceridämie (Hyperlipämie)
Typ II Hyper-β-Lipoproteinämie	essentielle familiäre xanthomatoöse Hypercholesterinämie
Typ III „Broad-β-Disease“	familiäre Hypercholesterinämie mit Hypertriglyceridämie (Hyperlipämie); „Mischform“
Typ IV Hyper-Prä-β-Lipoproteinämie	endogene kohlenhydratinduzierbare oder kalorieninduzierbare (familiäre) Hypertriglyceridämie (Hyperlipämie)
Typ V Hyper-Prä-β-Lipoproteinämie und Hyperchylomikronämie	gemischt exogene und endogene Hypertriglyceridämie (Hyperlipämie)

Tab. 1: Klassifikation der Hyperlipidämien nach dem Verhalten der Lipoproteine (Kremer, 1970)

Auch das Geschlecht der Patienten wurde nicht berücksichtigt, nachdem sich auf Grund der Untersuchungen von FARHUD et al (1973) und anderer Autoren mit einem Gesamtmaterial von 3043 Männern und Frauen herausgestellt hatte, daß keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Phänotypenverteilung zwischen den Geschlechtern zu beobachten sind.

3. Für die C3-Typenbestimmung wird sowohl Stärkegelelektrophorese nach AZEN et al (1969) als auch Agarose-Dünnschicht-Elektrophorese nach ALPER und PROPP (1968) verwendet. Die Agarosegel-Elektrophorese wurde von TEISBERG (1970) mit einigen Modifikationen ausführlich und detailliert beschrieben. FARHUD et al (1972) übernahmen Teisberg's Methode wiederum mit gewissen Modifikationen, die wir in unveränderter Form für unsere Bestimmungen verwenden.

Gelpuffer: Barbital-Na 0.0230 M, Barbital 0.0037 M,
Kalziumlactat 0.0009 M; (=0.025 %ig), pH 8,6

Brückenpuffer: Barbital-Na 0.0610 M, Barbital 0.0106 M,
Kalziumlactat 0.0018 M; (=0.065 %ig), pH 8

3. I. G e l :

1 %iges Agarosegel (Agarose Op.-Nr. 113997 von der Firma Serva Heidelberg) wurde auf Glasplatten von 20 x 20 x 0,2 cm aufgetragen. Die Schichtdicke des Gels von 1 - 1.5 mm wurde als vorteilhaft befunden.

Die kühle Aufbewahrung der mit Gel beschichteten Glasplatten erfolgt in feuchten Kammern. Eine Gelplatte kann bis zu 4 Wochen verwendet werden.

3. II. S e r u m :

Es ist möglichst frisches Serum für die C3-Phänotypenbestimmung zu verwenden, am besten 2 - 4 Tage kühl aufbewahrtes Serum. Die hämolytischen Seren erschweren je nach Hämolysegrad die Differenzierung. Dies trifft auch auf die hyperlipidämischen Seren zu, d.h. je nach Fettgehalt ist die Typisierung des C3 erschwert bis unmöglich. Diese Fragestellung werden wir in einem späteren Kapitel ausführlich diskutieren.

Seren, die sofort nach der Gewinnung bei etwa - 20° C tiefgekühlt sind, können bis zu einem Vierteljahr noch für die C3-Phänotypenbestimmung verwendet werden, wobei häufigeres Auftauen des

Serums (zur Typisierung) die Haltbarkeitsdauer verkürzt. TEISBERG (1970, 1971) berichtet, daß bei einer Tiefkühlung von -80°C eine C3-Typisierung noch nach einem Halb- bis Dreivierteljahr möglich ist.

2,5 cm vom kathodalen Ende (jene Seite des Gels, die während der Elektrophorese an die Kathode angeschlossen wird) entfernt, werden durch leichtes Pressen dicken Filterpapiers (wie Whatman No 3) Spalten hergestellt. Das genannte Filterpapier kann auf die gewünschte Länge zugeschnitten werden. Im allgemeinen bildet man Spalten von ca. 9 - 11 mm Länge, wobei dann ca. 15 Seren auf einer Platte angesetzt werden können. Die zu untersuchenden Seren werden mit einer feinen Pipette oder auch Eppendorfpipette in die Spalten hineingegeben. Zur Kontrolle des Elektrophoreseverlaufes kann Testfarbstoff an das Gel getupft werden. Für diese Untersuchung verwendeten wir Desaga-Dünnschicht-Elektrophoresekammer (No 121220C, Desaga GmbH, Heidelberg).

3. III. Elektrophorese:

Die im voraus beschichtete Gelplatte mit den Serumproben wird auf den Kühlblock gesetzt. Durch das sehr starke, vorher in Elektrodenpuffer getauchte

Filterpapier (Whatman No 3), das 15 - 20 mm der Geloberfläche bedeckt, werden die Kontakte mit den beiden seitlich gelegenen Elektrodenpuffer an der Gelplatte hergestellt.

Wir arbeiteten mit 21 V/cm Stromstärke, woraus sich ein Gesamt mA von 50 - 60 ergab.

Durch Umpolung der Elektrophoresekammer (jeweils nach Ablauf eines Elektrophoresevorganges) werden die immer an der Anode sitzenden Salze, die in größeren Mengen den Elektrophoreseablauf stören bzw. unterbrechen können, gelöst. In jede Elektrodenrinne wird etwas frischer Puffer gegeben. Bei einer Elektrophoresedauer von 2 1/2 Stunden erreichten wir eine gute Trennbarkeit. Eine längere Elektrophoreselaufzeit bis zu ca. 3 1/2 Stunden bringt keinerlei bessere Differenzierung mit sich, manchmal ist sogar das Gegenteil der Fall (TEISBERG, 1971).

3. IV. Fixieren, Waschen, Trocknen, Färben und Entfärben:

Nach Beendigung der Elektrophorese und Abschalten des Gerätes wird die Gelplatte 20 - 30 Minuten in 4 %ige Eisessiglösung getaucht.

Die Gelplatte wird für ca. 30 Minuten in eine mit Aqua dest gefüllte Schale getaucht; die Aqua dest Menge von 1 Liter soll spätestens nach 5 - 6 Waschvorgängen erneuert werden.

Unmittelbar nach dem Waschvorgang wird die Gelplatte in die Trockenkammer gebracht. Nach FARHUD et al (1972) dauert der Trockenvorgang bei einem Hitzeegrad von $80 - 100^{\circ} \text{C}$ etwa $1 \frac{1}{2}$ Stunden, wobei die Proteine sehr gut und vollständig nachweisbar sind. Das von TEISBERG (1970) vorgesehene Trocknen bei Zimmertemperatur dauert ca. 16 - 18 Stunden und ist zeitraubend und bringt auch keine besseren Resultate mit sich. Nun läßt man die gut getrocknete Gelplatte aus dem Trockenschrank langsam abkühlen (10 - 15 Min.). Darin wird die Platte 2 - 3 Minuten mit 1 %iger Amido Schwarzlösung (1 g Amidoschwarz 10B extra von Fa. Serva, Heidelberg in 10 ml Eisessig + 50 ml Methanol + 50 ml Aqua dest gut mischen und filtrieren) gefärbt.

Nach dem Färbevorgang wird die Gelplatte mit 1 %iger Essigsäure entfärbt. Andere Entfärber oder stärkere Konzentration von Essigsäure liefern keine besseren Resultate, schaden unter Umständen dem Gel bzw. Protein.

Gleich nach der Entfärbung kann C3-Protein als einzige Bande zwischen Impfstelle und Transferrin gelesen werden, wie aus Abb. 4 hervorgeht.

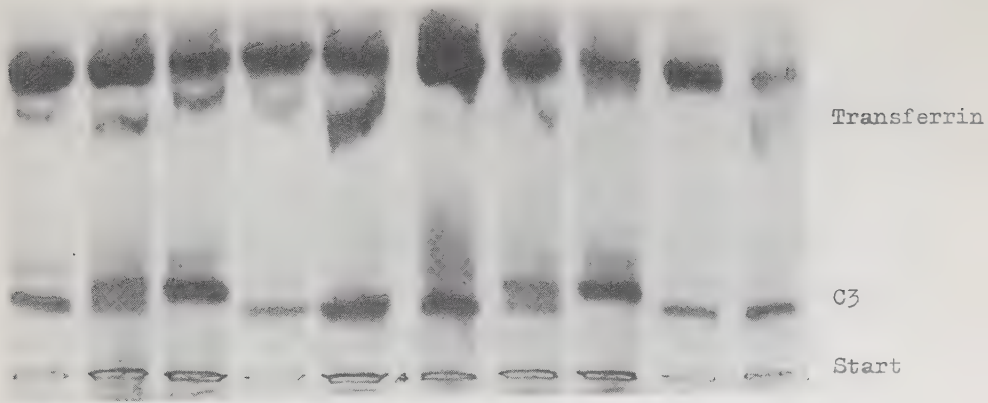


Abb. 4: C3 Bande auf Agarose-Gelplatte

Tf = Transferrin

C3 = C3-Complement

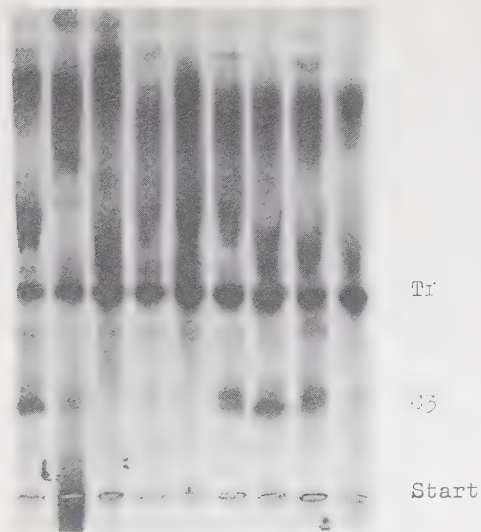


Abb. 5: Die Seren 2 - 5 zeigen keine klare Bande
an typischen Stellen, sie können nicht auf
C3 typisiert werden

Tf = Transferrin

C3 = C3-Complement

III. Ergebnisse und Diskussion

Nur bei insgesamt 58 Seren der von uns untersuchten 75 Patienten war nach Wiederholungen eine klare Differenzierung möglich. Die restlichen 17 Seren konnten nicht auf C3 typisiert werden (Abb. 5). Dies entspricht ca. 23 % des Gesamtkollektivs, was einen hohen Anteil darstellt. Hierüber werden wir noch getrennt diskutieren. Die gleiche Tatsache wurde auch bei Diabetikern und Patienten mit Hepatopathien von FARHUD et al (1972) beobachtet und diskutiert. Bei den genannten 58 Seren ergab sich die in Tab. 2 notierte C3-Phänotypenverteilung. Bei diesem Untersuchungsgut wurden keine zusätzlichen C3-Varianten beobachtet.

Tab. 2 zeigt eine vergleichende Gegenüberstellung der absoluten und prozentualen C3-Phänotypenverteilung beim Gesamtkollektiv der Patienten mit Hyperlipoproteinämie und bei gesunden Kontrollpersonen; letztere wurden aus der Arbeit von FARHUD et al (1973) übernommen und entstammen einer Populationsuntersuchung im Lande Rheinland-Pfalz. Wesentliche Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der C3-Phänotypen bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie im Vergleich zum Kontrollkollektiv bestehen demnach

C3-Phänotypen		SS	SF	FF	Σ
A	abs.	29	26	3	58
	rel.	0,50	0,45	0,05	1,00
B	abs.	134	68	8	210
	rel.	0,64	0,32	0,04	1,00
Σ	abs.	163	94	11	268

Tab. 2: Absolute und prozentuale C3-Phänotypenverteilung
A: Patienten mit Hyperlipoproteinämien
B: Gesunde (nach FARHUD)

Hyperlipoproteinämie- C3-Typ	SS		SF		FF		nicht typisierbar		Summe	
	Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%	abs.	%
II a	4	(66)	1	(17)	-	-	1	(17)	6	(100)
II b	9	(50)	5	(28)	-	-	4	(22)	18	(100)
III	3	(30)	3	(30)	2	(20)	2	(20)	10	(100)
IV	9	(33)	12	(44)	1	(4)	5	(19)	27	(100)
V	4	(28)	5	(36)	-	-	5	(36)	14	(100)
Summe	29		26		3		17		75	

Tab. 3: Absolute und relative Verteilung der C3-Phänotypen bei den einzelnen Typen der Hyperlipoproteinämien, mit Berücksichtigung der nicht typisierbaren Fälle

Bemerkung: Wegen der geringen Fallzahlen sind die relativen Häufigkeiten eingeklammert angegeben und müssen mit Vorsicht betrachtet werden.

nicht. Genauer ergab die statistische Auswertung:
Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$
steht das Material nicht im Widerspruch zur Hypo-
these identischer Verteilungen der C3-Phänotypen
in den Kollektiven A und B.

Getestet wurde die Hypothese identischer Verteilun-
gen gegen die Hypothese unterschiedlicher Verteilun-
gen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$
mit einem χ^2 - Homogenitätstest.

Ergebnis: $\hat{\chi}^2 = 3,75 \leq 5,99 = \chi^2_{2; 0,95}$ (siehe
statistischen Teil).

In Tab. 3 sind die absolute und relative Häufigkeits-
verteilung der C3-Phänotypen bei den einzelnen Hyper-
lipoproteinämietypen zusammengestellt.

Es sei darauf hingewiesen, daß die angegebene Prozent-
zahl in Zusammenhang mit der geringen Anzahl von
Fällen zu beurteilen sind.

In Abb. 6 ist die relative Verteilung, mit allem gebote-
nen Vorbehalt, dargestellt.

Zur statistischen Untersuchung der absoluten Vertei-
lungen der C3-Phänotypen SS, SF, FF muß der Phänotyp FF
gesondert betrachtet werden. Das Material wurde - ohne
Berücksichtigung der nichttypisierbaren Fälle - wie
folgt dargestellt:

$\begin{array}{c} \text{C3-Typ} \\ \text{H} \end{array}$	SS	SF	Σ
II a	4	1	5
II b	9	5	14
III	3	3	6
IV	9	12	21
V	4	5	9
Σ	29	26	55

Tab. 4: Absolute Häufigkeiten der Ausprägungen SS und SF des Merkmals "C3-Phänotyp" bei den einzelnen Typen der Hyperlipoproteinämien.

$\begin{array}{c} \text{C3-Typ} \\ \text{H} \end{array}$	FF	nicht FF	Σ
III	2	6	8
IV	1	21	22
Σ	3	27	30

Tab. 5: Absolute Häufigkeit der Ausprägung FF des Merkmals "C3-Phänotyp" bei den Typen III, IV der Hyperlipoproteinämie

Bemerkung: Statistisch wird das Beobachten von FF als Ergebnis eines sog. BERNOULLI-Versuchs interpretiert. "Nicht FF" umfaßt also die C3-Typen SS und SF.

Zu Tab. 4: Getestet wurde die Hypothese identischer Verteilungen der Typen der Hyperlipoproteinämien gegen die Hypothese ungleicher Verteilungen zur Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$ mit einem χ^2 -Homogenitätstest.

Ergebnis: $\hat{\chi}^2 = 3,36 \leq 9,49 = \chi^2_{4; 0,95}$ (siehe statistischen Teil).

Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ steht das Material also nicht im Widerspruch zur Hypothese gleicher Verteilungen.

Zu Tab. 5: Das Testproblem wurde so gestellt:

Die Hypothese gleicher Auftretenswahrscheinlichkeit von FF bei den Typen III und IV gegen die Hypothese höherer Auftretenswahrscheinlichkeit bei Typ III als bei Typ IV bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$.

Angewandt wurde ein exakter Test von FISHER: Bezüglich der Menge aller möglichen 4-Felder-Tafeln mit den vorliegenden Randverteilungen rechtfertigt die beobachtete Tafel keine Ablehnung der Hypothese gleicher Auftretenswahrscheinlichkeiten bei $\alpha = 0,05$ (siehe statistischen Teil).

Diskussion

1. Wie aus Abb. 6 ersichtlich, ist die SS-Frequenz am höchsten bei Typ II a und nimmt ab in der Reihenfolge der Typen IIa-IIb-III-IV bzw. V. Umgekehrt verhält sich die Frequenz des Phänotyps SF; hier liegt die Häufigkeit bei Typ II a am niedrigsten, sie nimmt schrittweise zu in der Reihenfolge IIa-IIb-III-IV und fällt wieder etwas ab bei Typ V. Interessanterweise ist die Häufigkeit von SS und SF beim Typ III gleich groß. Vergewärtigt man sich, daß Typ IIa durch eine Vermehrung der cholesterinreichen Beta-Lp gekennzeichnet und Typ IV durch eine Erhöhung der triglyceridreichen Prä- β -LP charakterisiert ist, (vergl. Tab. 1), so scheinen nach diesen Ergebnissen folgende Beziehungen zwischen den Phänotypen des C3-Komplements und der Hyperlipoproteinämien möglich:
 β -LP-Erhöhen gehen mit einem Überwiegen der SS-Phänotypen, Prä- β 'LP mit einem Überwiegen der SF-Typen einher, der Mischtyp II b zeigt ein C3-Verteilungsmuster, welches eine Mittelstellung zwischen II a und IV einnimmt. Auch Typ III, dessen Lipoproteinmuster durch das Auftreten eines abnormen β -LP mit etwa gleich großem Cholesterin- und Triglyceridgehalt als Lipidanteil bedingt ist, weist dieses Intermediärverhalten der C3-Frequenz besonders

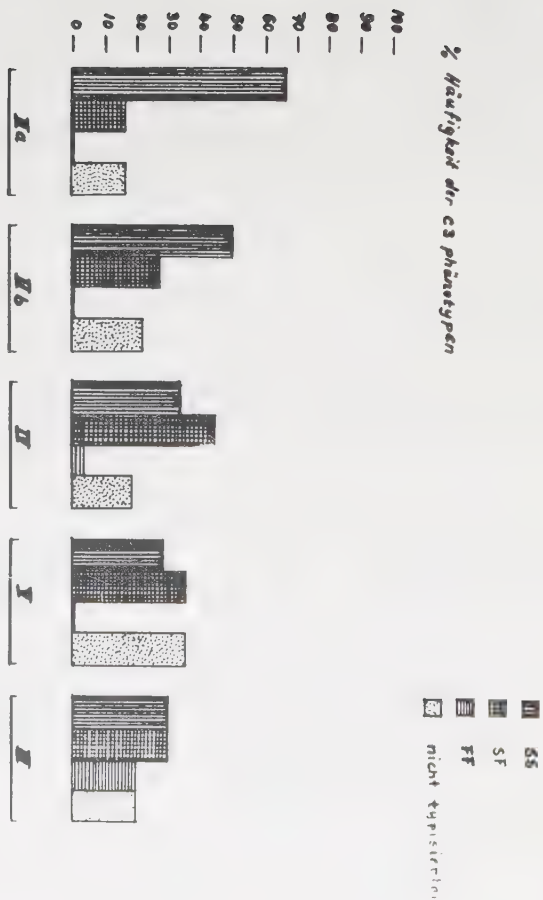


Abb. 6: Prozentuale Häufigkeitsverteilungen der C3-Phänotypen bei den einzelnen Formen von Hyperlipoproteinämietypen

ausgeprägt auf. Mit allem gebotenen Vorbehalt könnte man auch formulieren, daß die Zunahme der Prä- β -LP die C3-SS-Frequenz zurückdrängt und eine Kombination mit dem F-Allel favorisiert; in diesem Sinne ließe sich auch die Tatsache deuten, daß lediglich bei den Typen III und IV C3-FF-Phänotypen beobachtet wurden.

Es muß aber nochmals darauf hingewiesen werden, daß die geringe Beobachtungszahl eine zuverlässige Beurteilung der prozentualen Häufigkeiten nicht gestattet. Die obigen Betrachtungen sollen vielmehr als Grundlage und Anstoß zu weiteren Untersuchungen in diese Richtung verstanden werden.

Statistisch ließen sich Unterschiede in den C3-Phänotypen-Verteilungen nicht sichern (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05).

2. Auffallend ist der hohe Anteil von Seren, bei denen keine einwandfreie Typisierung der C3-Komponente möglich war. Dieser Prozentsatz nimmt mit zunehmender Hyper-Prä- β -LP zu und ist am höchsten in den Seren mit Typ V-Hyperlipoproteinämie.

Auf C3 nicht typisierbare Seren sind bei gesunden Probanden nur bei älteren eingefrorenen Seren oder denjenigen, die einige Zeit bei Zimmertemperatur gelagert waren, zu beobachten. FARHUD et al (1972) berichteten erstmals über dieses Phänomen bei Patienten

mit Hyperlipidämie, Diabetes mellitus sowie Hepatopathien. Als Ursache für die Nicht-Typisierbarkeit von C3-Phänotypen werden von FARHUD et al (1972) diskutiert:

a) die Konzentration des C3-Proteins im Serum ist vermindert infolge von Krankheiten, wobei entweder dieses Protein als Abwehrstoff verbraucht, oder die Synthese des C3 durch den Krankheitsverlauf gestört wurde.

b) das C3-Protein wird infolge des Krankheitsbildes so verändert, daß die C3-Bande an den typischen Stellen nicht zu beobachten ist, dafür aber oberhalb der Transferrinbande als schwache, dennoch deutlich erkennbare Artefactstreifen erkenntlich. Ein Beispiel ist in Abb. 7 wiedergegeben.

3. Die extrem lipämischen Seren, bei denen keine C3-Typisierung möglich war, wurden wiederholt bei höherer Umdrehung bis zu 10 Minuten zentrifugiert, so daß sich ein Teil der Low-Density-Lipoproteine als Rahmschicht an der Oberfläche anreicherte. Auch die Elektrophorese des nun weniger lipämischen Unterstandes erlaubte keine Typisierung. Dies ist als Hinweis darauf anzusehen, daß die Nicht-Typisierbarkeit hyperlipämischer Seren nicht durch die

physiko-chemischen Eigenschaften der Lipämie an sich bedingt ist, sondern auf einer chemischen Änderung der Serumzusammensetzung beruht.

4. Die auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials vorgefundenen und zu vermutenden Assoziationen der verschiedenen C3-Phänotypen mit den einzelnen Hyperlipoproteinämietypen bedürfen einer ergänzenden Untersuchung an einem größeren Material von Hyperlipoproteinämien, wobei besonders auf eine klare Aufgliederung der Kollektive in essentielle primäre familiäre Formen und in sekundäre symptomatische Formen der Hyperlipidämie zu achten ist, welche im vorliegenden Untersuchungsgut aus technischen Gründen nicht möglich war. Wahrscheinlich lassen sich dann sichere Aussagen darüber machen, ob die anhand der vorliegenden Befunde vermuteten Assoziationen Ausdruck einer biologischen Gesetzmäßigkeit darstellen. Erst dann sollten Überlegungen über etwaige kausale Zusammenhänge und Interrelationen angestellt werden.

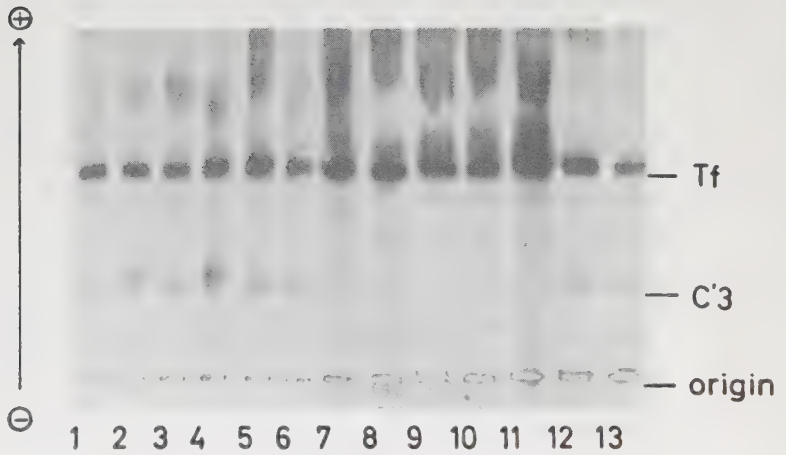


Abb. 7: Die Seren 7 - 11 lassen keine C3-Bande an typischen Stellen erkennen; stattdessen erscheinen oberhalb der Transferrinbanden zusätzliche Streifen (Nach FARHUD et al, 1972) (8).

Tf = Transferrin

C3 = C3-Complement

IV. Statistischer Teil

1. χ^2 -Homogenitätstest: in einer r.c-Felder-Tafel
(nach SACHS, 1969)

An n Personen werden ein 2-dimensionales Merkmal mit r Ausprägungen in der ersten und c Ausprägungen in der zweiten Komponente beobachtet.

Die beobachteten Häufigkeiten werden in einer r.c-Felder-Tafel dargestellt:

Merkmal Ausprägungen	Merkmal 2	Ausprägungen	Σ
	1	1 --- j --- c	
1			$n_{1.}$
$\vdots$			$\vdots$
i		n_{ij}	$n_{i.}$
$\vdots$			$\vdots$
r			$n_{r.}$
Σ	$n_{.1} \dots n_{.j} \dots n_{.c}$		n

$$n_{i.} = \sum_{j=1}^c n_{ij}$$

$$n_{.j} = \sum_{i=1}^r n_{ij}$$

$$\text{für } i = 1, \dots, r \\ j = 1, \dots, c$$

Das Testproblem lautet:

"Nullhypothese" H : die r Verteilungen des Merkmals 2 in den Ausprägungen des Merkmals 1 sind identisch

"Alternativhypothese" K : die r Verteilungen sind nicht identisch

Irrtumswahrscheinlichkeit α

Prüfstatistik:
$$\hat{\chi}^2 = n \cdot \left(\sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{n_{ij}^2}{n_{i.} \cdot n_{.j}} - 1 \right)$$

Kritischer Wert: $\chi^2_{(r-1).(c-1); 1-\alpha}$ ($1-\alpha$)-Fraktile einer χ^2 -Verteilung mit $(r-1).(c-1)$ Freiheitsgraden.

Entscheidungsregel:

$$\hat{\chi}^2 \left\{ \begin{array}{ll} > \chi^2_{(r-1).(c-1); 1-\alpha} & \text{lehne H ab} \\ \leq \chi^2_{(r-1).(c-1); 1-\alpha} & \text{lehne K ab} \end{array} \right\}$$

Bei Ablehnung von H heißt K "statistisch gesichert bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von α "

Bei Ablehnung von K sagt man, "die Hypothese H steht bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit α nicht im Widerspruch zum Beobachtungsmaterial"

Nach dem von SACHS (1969), S. 461, angegebenen Kriterium ist der oben skizzierte Test anwendbar auf das Material der Tabellen 2 und 4.

2. Exakter Test von FISHER (nach WITTING, 1966):

Beobachtet wird eine binomialverteilte Zufallsvariable in 2 Kollektiven A und B —

So wird hier das Auftreten des C3-Phänotyps FF unter den Patienten der Hyperlipoproteinämie-Typen III und IV modellmäßig verstanden.

Testproblem:

Nullhypothese: gleiche Auftretenswahrscheinlichkeit
für FF in Typ III und IV

Alternativhypothese: Auftretenswahrscheinlichkeit
für FF in Typ III ist größer
als in Typ IV

Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$

Prüfverfahren: man stellt alle möglichen

4-Felder-Tafeln	FF	nicht FF	mit konstanter
III	a	b	8
IV	c	d	22
	3	27	30

Randverteilung auf und berechnet deren Wahrscheinlichkeiten:

$$h_{30,8,3}(\alpha) = \frac{\binom{8}{\alpha} \binom{22}{c}}{\binom{30}{3}}$$

Prüfstatistik: $a_{\text{beob.}}$ (s. Tab. 5 : $a_{\text{beob.}} = 2$)

Kritischer Wert: $c(3) = \inf \left\{ t \mid \sum_{\alpha \geq t} h_{30,8,3}(\alpha) \leq 0,05 \right\}$

Entscheidungsregel:

$$a_{\text{beob.}} \begin{cases} > c(3) & \text{lehne } H \text{ ab} \\ \leq c(3) & \text{lehne } K \text{ ab} \end{cases}$$

Durchführung: es ergibt sich hier:

$$\begin{aligned} a_{\text{beob.}} &= 2 \\ c(3) &= 2 \end{aligned}$$

Also kann bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ die Alternativhypothese einer größeren Auftretenswahrscheinlichkeit von FF bei Typ III als bei Typ IV statistisch nicht gesichert werden.

V. Literaturverzeichnis

=====

- 1.) Alper, C.A. and Propp, R.P. (1967):
An electrophoretic Variant of C3.
Clin. Research 15, 291.
- 2.) Alper, C.A. and Propp, R.P. (1968):
Genetic Polymorphism of the third Component
of Human Complement (C3).
Journ. Clin. Invest. 47, 2181-2191.
- 3.) Alper, C.A., Johnson, A.M., Birtch, A.G. and
Moore, F.D. (1969):
Human C3: Evidence for the Liver as the
primary Site of Synthesis.
Science, 163, 286-288.
- 4.) Alper, C.A., Levin, A.S. and Rosen, F.S. (1966):
B- 1c Globulin: Metabolism in Glomerulonephritis.
Science, 153, 180-182.
- 5.) Alper, C.A., and Rosen, F.S. (1967):
Studies of the vivo Behavior of Human C3
in Normal Subjects and Patients.
Journ. Clin. Invest. 46, No 12, 2021-2034.
- 6.) Azen, E.A. and Smithies, O. (1968):
Genetic Polymorphism of C3 (B_{1c}-Globulin)
in Human Serum.
Science 162, 905-907.
- 7.) Azen, E.A., Smithies, O. and Hiller, O. (1969):
High-Voltage Starch-Gel-Electrophoresis in the
Study of Post-Albumin Proteins and C3 (B_{1c}-Globulin)
Polymorphism.
Biochemical Genetics 3, 215-228.

- 8.) Farhud, D.D., Ananthakrishnan, R. and Walter, H. (1972):
Association between C3-Phenotypes and various Diseases.
Humangenetik 17, 57-60.
- 9.) Farhud, D.D. and Walter, H. (1973):
Polymorphism of C3 in German, Bulgarian, Iranian and Angola Population.
Humangenetik 17, 161-164.
- 10.) Farhud, D.D. and Walter, H. (1973):
Verwendung des C3 (β_{1c} -Globulin) Polymorphismus bei der Vaterschaftsbegutachtung.
Zeitschrift f. Rechtsmedizin (im Druck).
- 11.) Farhud, D.D. und Fischer, J. (1973):
C3-Bestimmung bei splenektomierten Patienten.
Blut, (im Druck).
- 12.) Fireman, P., Zuchowski, D.A. and Taylor, P.M. (1969):
Development of Human Complement System.
Journ. Immunol., 103, No 1, 25-31.
- 13.) Fredrickson, D.S. und Lees, R.S. (1965):
Familial Hyperlipoproteinemia. In: The metabolic basis of inherited Diseases. Mc Graw-Hill Book Co.
- 14.) Kremer, G.J. (1970):
Zur Klassifikation und Therapie von Hyperlipidämien.
Therapiewoche 10, 20, 420.
- 15.) Kremer, G.J. (1971):
Krankheiten durch Störungen des Fettstoffwechsels.
Therapiewoche 21, 3, 175.

- 16.) Mayer, M.M. (1967):
Nomenclature and Reaction Mechanism of the
Complement System. (Protides of the Biological
Fluids, Vol. 15, 383. H. Peeters).
Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- 17.) Rapp, W., Kahlke, W. (1968):
Lipoprotein-Elektrophorese in Agarosegel.
Clin. Chim. Acta 19:493
- 18.) Sachs, L. (1969):
Statistische Auswertungsmethoden
2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, New York
- 19.) Teisberg, P. (1970):
High Voltage Agarose Gel Electrophoresis
in the Study of C3-Polymorphism.
Vox-Sang., 19, 47-56
- 20.) Teisberg, P. (1970):
New Variants in the C3-System.
Hum. Hered. 20, 631-637
- 21.) Teisberg, P. (1971):
The Distribution of C3-Types in Norway.
Hum. Hered. 21, 154-161
- 22.) Teisberg, P. (1971):
Genetics of the C3-System.
Hum. Hered. 21, 458-466
- 23.) Teisberg, P. (1971):
Another Variant in the C3-System.
Clin. Genet. 2, 298-302.

- 24.) Teisberg, P. (1971):
The Conversion Rate of Human C3 under
different Storage Conditions.
Vox. Sang., 20, 230-238
- 25.) Witting, H. (1966):
Mathematische Statistik.
Teubner, Stuttgart

Lebenslauf

Am 5. 1. 1941 wurde ich, Mohammed-Esmail Omid als Sohn des Kaufmanns Gholamreza Omid und seiner Ehefrau Kolssum, geb. Ghalebandi, in Behschahr / Iran geboren.

Nach Besuch der Volksschule und des Gymnasiums in Behschahr legte ich 1959 das Abitur in Teheran ab.

Von 1959 - 1960 studierte ich in der BRD an der Medizinischen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg, von 1960 - 1961 an der Universität Freiburg, wo ich das Vorphysikum machte. Anschließend war ich wieder in Erlangen immatrikuliert, wo ich 1963 das Physikum bestand. Dann studierte ich ein Jahr an der Universität Marburg, ein weiteres Jahr am Klinikum Essen. Von 1966 bis 1967 war ich wieder in Erlangen und legte dort 1967 das Staatsexamen in Medizin ab.

Die Medizinalassistentenzeit habe ich abgeleistet:

Von August 1967 - Januar 1968 auf der Inneren Abteilung der Städt. Krankenanstalten Weiden, bis November 1968 in der Chirurgischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses von Hagen, bis Juli 1969 auf der Gynäkologisch-Geburtshilflichen Abteilung des St. Marien-Hospitals in Gelsenkirchen-Buer.

Von August 1969 bis Dezember 1970 war ich als Assistenzarzt an obigem Hospital tätig.

Seit dem 1. 1. 1971 arbeite ich auf der Gynäkologisch-Geburtshilflichen Abteilung des St. Anna-Hospitals in Wanne-Eickel und befinde mich im 4. Jahr der Facharztausbildung für Gynäkologie und Geburtshilfe.

Herrn Professor Dr. med. G. J. Kremer bin
ich für die freundliche Überlassung des
Dissertationsthemas sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. med. Dr. rer. nat. D. D. Farhud, der
mir mit Rat und Tat zur Seite stand, möchte
ich herzlich danken.

